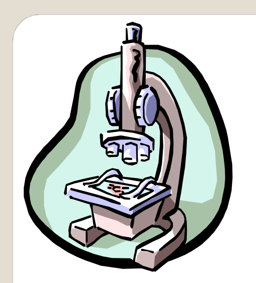


République du Sénégal
Ministère de la Santé et de la Prévention
Réseau National de Laboratoires

* * * * * * * * * *

LE MICROSCOPE

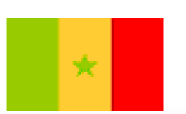
Bousso Niang

Ingénieure BioMédicale, RNL

RESAOLAB

Convention de Financement N°AFD CZZ 1338 01 C





OBJECTIFS

1°) Définir la microscopie et le microscope

2°) Décrire les différents types de microscope

3°) Citer les différences entre microscope optique et microscope électronique

4°) Décrire les éléments constitutifs du microscope optique à fond clair

5°) Présenter le mode opératoire du M. optique

6°) Décliner les principes de l’entretien général

INTRODUCTION

* **Microscopie : ensemble des techniques d'imagerie des objets de petites dimensions.**
* **Microscope : outil de diagnostic indispensable (parasitologie, mycologie, histologie, bactériologie et hématologie).**
* **Echantillons préparés suivant des techniques pour mettre en évidence les détails que l'on souhaite observer.**

TYPES DE MICROSCOPES

- **MICROSCPES OPTIQUES**
- **MICROSCOPES ELECTRONIQUES**

MICROSCOPES OPTIQUES

TYPES	PARTICULARITES
Optique à fond clair	Structure interne des objets
Optique à fond noir	Echantillons non colorés, structures vivantes et en déplacement
Optique à fluorescence	Marquage et détection simultanée de structures et composés chimiques
Optique à contraste de phase	Mise en valeur des différences d'indices de réfraction et de contraste
Optique interférentiel	Exploitation des interférences de 2 faisceaux lumineux
Optique confocal	Image tridimensionnelle de l'objet
Optique polarisant	Polarisation de la lumière traversant l'échantillon
Optique inversé	Observation de cellules vivantes avec régulation du CO_2
Stéréomicroscope	Perception stéréoscopique (2 images pour chaque œil)

MICROSCOPES ELECTRONIQUES

TYPES	PARTICULARITES
Electronique en transmission	Transmission image par faisceau d'électrons
Electronique à balayage	Production d'images par sondage de l'échantillon
Electronique par réflexion	Détection du faisceau réfléchi d'électrons
Electronique à balayage en transmission	Combinaison balayage et transmission

DIFFERENCES ENTRE MICROSCOPES OPTIQUES ET ELECTRONIQUES

MICROSCOPE OPTIQUE	MICROSCOPE ELECTRONIQUE
Technique simple	Technique complexe
Moins lourd	Sophistiqué
Plus répandu	Rare
Faisceau lumineux	Faisceau d'électrons
Lentilles en verre	Lentilles électrostatiques, magnétiques
Grossissement 2000 fois	Grossissement 2 000 000 fois
Résolution limite	Bonne résolution

DESCRIPTION DU MICROSCOPE OPTIQUE A FOND CLAIR

- **Parties optiques :** lentilles, filtres, prismes, condenseur
- **Parties mécaniques :** mises aux points
- **Parties électriques :** transformateur, source lumineuse
- **Parties électroniques :** appareil photo, enregistreur vidéo



Photographie d'un microscope optique à fond clair

01 - Oculaires
02 - Tubes porte-oculaires réglables
03- Tête binoculaire tournante
04 - Vis de blocage de la tête binoculaire
05 - Tourelle revolver porte-objectifs
06 - Objectif (parafocalité de 45 mm)
07 - Potence verticale
08 - Platine avec chariot incorporé
09 - Boutons de commande du chariot
10 - Condenseur d'Abbe à 3 lentilles
11 - Sous-platine mobile verticalement
12 - Vis de fixation du condenseur
13 - Vis de centrage du condenseur
14 - Lentille escamotable
15 - Réglage en hauteur du condenseur
16 - Diaphragme d'ouverture
17 - Porte-filtre escamotable
19 - Interrupteur et réglage de la puissance de l'éclairage incorporé
20 - Prise du cordon d'alimentation
21 - Mise au point rapide bilatérale
22 - Mise au point micrométrique bilatérale
23 - Base du statif (contenant l'éclairage)
24 - Collecteur avec diaphragme de champ
25 - Cavité pour filtres
26 - Chariot mobile
27 - Écartement réglable des oculaires
28 - Indicateur d'écartement interpupillaire

❖ Objectif : ensemble de lentilles en verre formant une succession de dioptres



Photographie d'un objectif

Exemple :

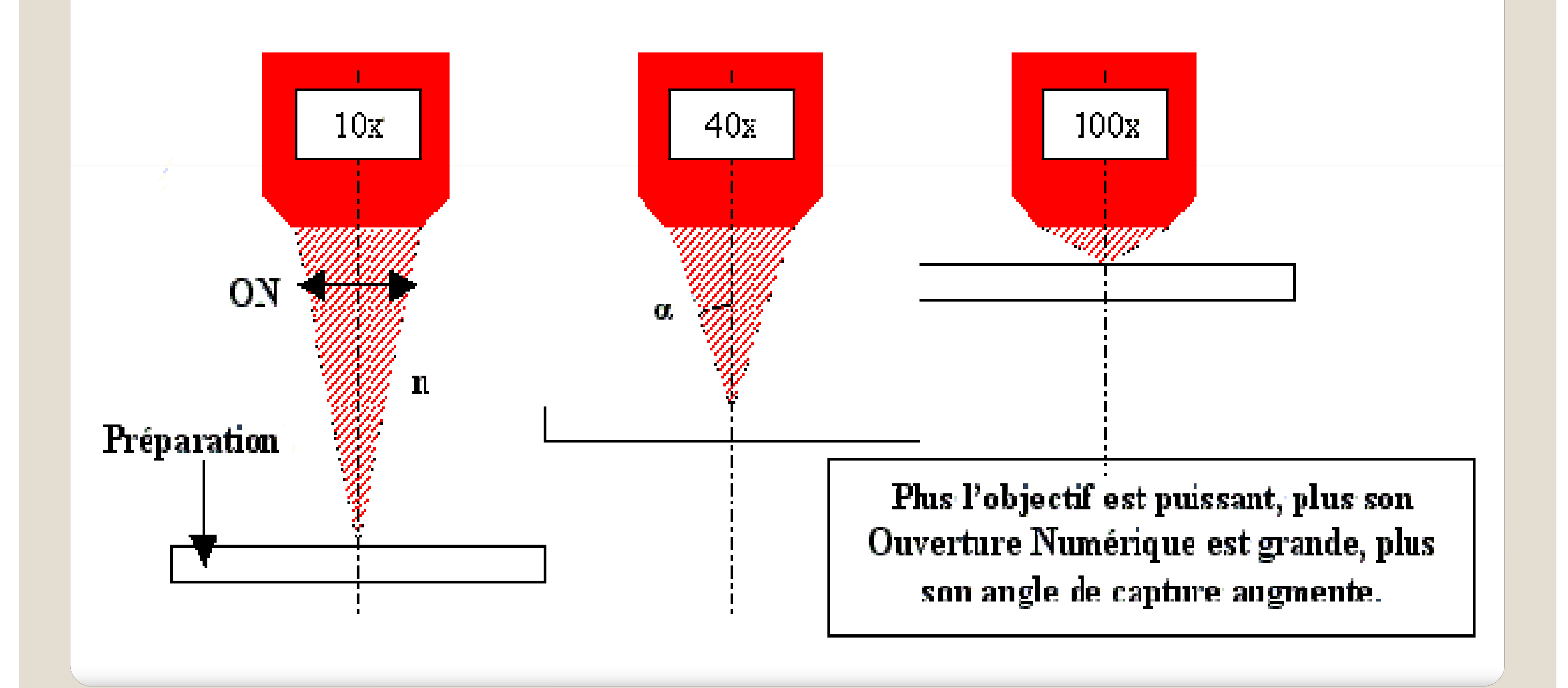
100 X / 1,25 oïl
160 / 0,17

Signifie :

- grossissement = 100
- ouverture numérique = 1,25
- milieu d'immersion = huile
- longueur mécanique du tube = 160 mm
- épaisseur lamelle couvre-objet = 0,17 mm

Objectifs secs : 4X, 10X, 20X, 40X (Air)

Objectifs humides : 60X, 100X (Immersion)



❖ Oculaire : système optique, loupe perfectionnée fournissant une image à l'infini



Photographie d'un oculaire

Exemple :

WF 10 X
20 mm

Signifie :

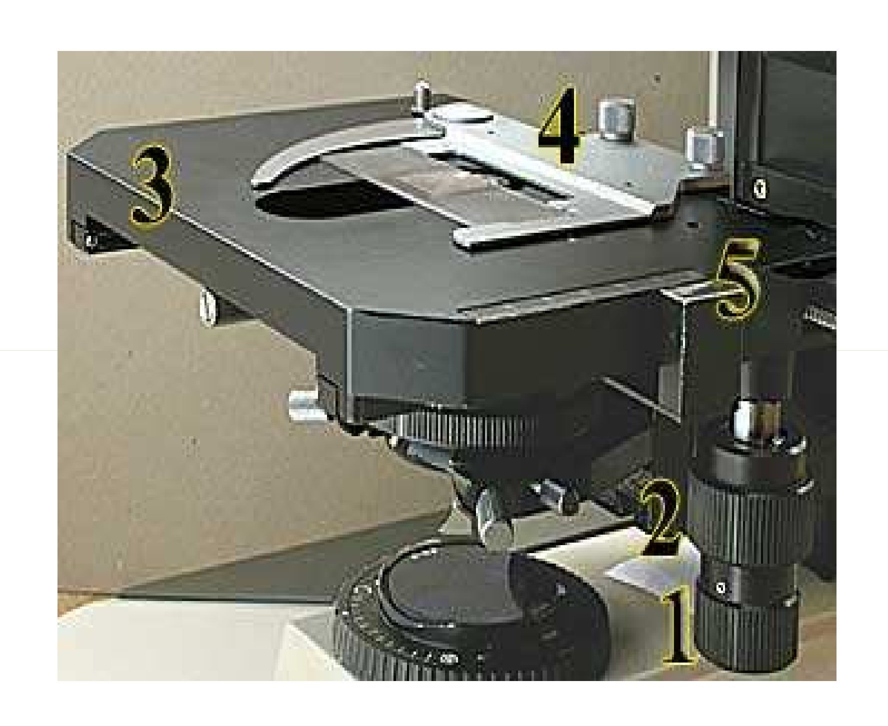
- **Grossissement = 10**
- **Distance focale = 20 mm**

❖ **Condenseur : ensemble de lentilles de grande ouverture, concentre la lumière sur l'objet**



Photographie d'un condenseur

❖ **Platine porte objet :** **perpendiculaire à l'axe optique présente un orifice central permettant le passage des rayons lumineux**





(1) déplacement (2) déplacement Y ; (3) platine ; (4) surplatine; (4) surplatine; (5) X ; vernier Y ; (6) vernier X

❖ **Tourelle porte-objectifs :** **disque tournant à la partie inférieure du tube optique**



Photographie d'un revolver

❖ Commande de mise au point : modifie la distance objectif – coupe microscopique



Boutons coaxiaux de mises au point macro- (1) et micrométrique (2)

❖ **Source lumineuse :** **ampoule halogène produisant la lumière à travers un verre de protection**



Photographie d'ampoules

MICROSCOPE OPTIQUE A FLUORESCENCE



Photographie d'un microscope Optique à fluorescence

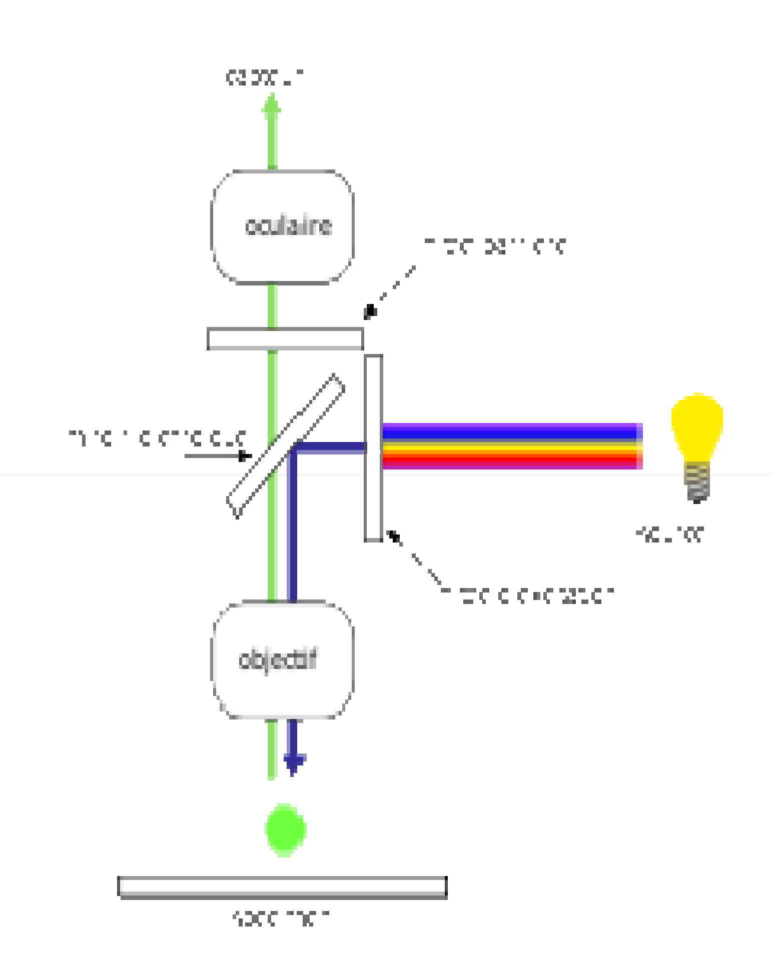


Schéma de filtrage

CONDITIONS POUR INSTALLATION MICROSCOPE OPTIQUE A FOND CLAIR

- ✓ **Prise électrique compatible**
- ✓ **Pièce climatisée**
- ✓ **Surface plane, dure et stable**
- ✓ **Altitude : plus d'un mètre**
- ✓ **Placer loin des appareils vibrants**
- ✓ **Hors des jets d'eau et éclaboussures**

MODE OPERATOIRE MICROSCOPE OPTIQUE A FOND CLAIR

- ✓ **Allumer : appuyer sur la molette**
- ✓ **Fixer l’échantillon sur la platine**
- ✓ **Engager l’objectif d’observation**
- ✓ **Faire les mises au point (rapide et fine)**
- ✓ **Ajuster la distance interpupillaire**
- ✓ **Ajuster l’ouverture numérique du diaphragme**
- ✓ **Commencer l’observation**
- ✓ **Eteindre après observation**
- ✓ **Nettoyer**

ATTITUDE DE L'OBSERVATEUR

- ✓ **Bonne préparation de l'échantillon**
- ✓ **Libérer la paillasse de travail**
- ✓ **Réguler l'éclairage dans la pièce**
- ✓ **Position confortable**
- ✓ **Concentration parfaite**
- ✓ **Manipulation délicate : composants sensibles**
- ✓ **Lecture non hâtive**
- ✓ **Etre sensible aux détails**
- ✓ **Noter et calculer (s'il y a lieu)**

ENTRETIEN GENERAL

- Enlever la poussière des parties optiques
- Nettoyer la surface des lentilles
- Lubrifier les parties mécaniques
- Nettoyer le corps du microscope
- Eviter le développement de moisissures
- Enlever l'huile à immersion
- Faire attention aux réactifs corrosifs
- Eviter les empreintes de doigts
- Housser après usage

MATERIEL NECESSAIRE

- Poire en caoutchouc, pinceau en poils de chameau, tissu non pelucheux
- Ether, xylène
- Huile fine de lubrification
- Solvant désinfectant : solution alcoolisée
- Dessiccateur : gel de silice
- Papier optique
- Housse pare poussière

GUIDE DE DEPANNAGE

Problème	Causes possibles	Solution
Lampe non allumée	ampoule grillée, câble non branché, fusible sauté	Vérifier ces états
Lampe s'use vite	Ampoule non conforme	Remplacer l'ampoule
Champ d'observation sombre	Objectif mal placé, condenseur trop bas, lentilles sales	Engager l'objectif jusqu'au cran, remonter le condenseur, nettoyer les lentilles
Particules visibles dans le champ d'observation	Parties optiques poussiéreuses	Nettoyer les
Image flottante	Condenseur trop bas, diaphragme faiblement ouvert	Ajuster l'ouverture numérique suivant l'objectif choisi
Image floue	Objectif mal placé, parties optiques-lame-lamelle sales, huile immersion non utilisée pour l'objectif humide, bulles d'air dans l'huile d'immersion	Engager l'objectif jusqu'au cran, nettoyer, utiliser l'huile d'immersion, enlever les bulles d'air

Problème	Causes possibles	Solution
Partie de l'image flotte	Objectif mal placé, échantillon mal placé sur la platine	Engager l'objectif, immobiliser échantillon avec des pinces
Objectif puissant touche l'échantillon	Echantillon mobile	Recouvrir d'une lamelle
Mise au point rapide trop forte	Bouton trop serré	Desserrer
Focus impossible	Bouton de Pré-Focus trop bas	Remonter le
Vue avec les 2 yeux non uniforme	Distance interpupillaire mal ajustée, pas de compensation dioptrique, oculaires non assortis	Ajuster ces paramètres, utiliser des objectifs similaires

CONCLUSION

* Pour un bon rendement optique, le microscope doit toujours demeurer propre.

* Parties optiques sensibles à la poussière : doivent être nettoyées.

* Parties mécaniques bloquées par encrassement : doivent être lubrifiées.

* Résultat microscopique fiable ↔ Netteté des images ⇒ microscope bien entretenu + adéquate préparation de l'échantillon + bon utilisateur

MERCI

